

**DAS KERNTROCKENGEWICHT
VON MENSCHLICHEN LEUKÄMIE- UND
LYMPHOSARKOMZELLEN IM VERGLEICH
ZU NORMALEN LYMPHOZYTEN**

von
Karl-Heinz Deckelnick
aus
Riegelsberg/Saar

1960



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Haematologischen Labor
der Universitäts-Kinderklinik Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. A. Windorfer

DAS KERNTROCKENGEWICHT VON MENSCHLICHEN LEUKÄMIE- UND LYMPHOSARKOMZELLEN IM VERGLEICH ZU NORMALEN LYMPHOZYTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Karl-Heinz Deckelnick
aus
Riegelsberg/Saar

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Wetterer
1. Referent: Priv. Doz. Dr. F. Lampert
2. Referent: Prof. Dr. A. Windorfer
Tag der mündlichen Prüfung: 18. März 1968

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von
Herrn Priv. Doz. Dr. med. F. Lampert in der Zeit von
April 1966 bis August 1967 an der Universitäts-Kinder-
klinik Erlangen-Nürnberg durchgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer,

Herrn Priv. Doz. Dr. F. Lampert,

danke ich herzlich für die Stellung des Themas, für die
wertvollen Hinweise und freundliche Unterstützung, die
mir bei der Ausführung dieser Arbeit zuteil wurden.

Herrn Professor Dr. A. Windorfer danke ich für die groß-
zügige Überlassung von Institutseinrichtungen.

Fräulein E. Urban und Fräulein K. Sachse gebührt herz-
licher Dank für wertvolle technische Hilfe.

188413

Meiner Mutter

in Dankbarkeit gewidmet

I N H A L T

EINLEITUNG	1
PATIENTEN	2
MATERIAL UND METHODIK	5
1. Präparation isolierter Zellkerne	5
2. Interferenzmikroskopische Messung	7
3. Statistischer Vergleich der okular- mikrometrisch und photographisch bestimmten Fläche	8
ERGEBNISSE	11
DISKUSSION	19
ZUSAMMENFASSUNG	22
LEGENDEN	23
LITERATUR	24

E I N L E I T U N G

Das Trockengewicht, ausgedrückt in 10^{-12} g, von Zellen oder Zellstrukturen kann man mit Hilfe des Interferenzmikroskopes auf optischem Wege durch Messung der Phasenverzögerung bei bekannter Fläche bestimmen (BARER, 1953).

Bei der quantitativ-cytologischen Untersuchung von malignen Zellen interessiert am meisten der Zellkern, das Kontrollorgan der Zelle; denn bei der Transformation normaler in maligne Zellen, wird primär der Zellkern betroffen (GRANBOULAN et al., 1963; DULBECCO, 1964).

Die Trockenmasse des Zellkernes enthält vorwiegend Proteine, Desoxyribonucleinsäure (DNS) und Ribonucleinsäure (RNS). Da der Zellkern zu 70 % aus Proteinen besteht (ALLFREY et al., 1955), kann man das Trockengewicht als Maß für die Proteinmenge des Zellkernes annehmen.

Mit Hilfe der Zellfraktionierung, haben wir die Kerne von Leukämiezellen im Knochenmark von 7 Kindern im vollen Krankheitsschub und von Lymphosarkomzellen aus dem Pleuraerguß von 1 Patienten isoliert und unfixiert sofort interferenzmikroskopisch untersucht. Auf gleiche Weise gemessene normale Blutlymphozyten dienten als Kontrolle.

P A T I E N T E N

1. H. L. : Bei Erkrankung 6 3/12 J. alter mongoloider Junge (3. Kind einer b. Geburt 38 J. alten Mutter) mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL).
Leukozytenwert vor Chemotherapie: $15.800/\text{mm}^3$.
Knochenmark: 91 % Parablasten, Mitoseindex (bei 3000 gezählten Zellen): 0,8 %; Chromosomenzahl: 47. 1 Remission, 154 Tage dauernd.
Gesamtmenngen der verabreichten Cytostatika:
6-Mercaptopurin (6-MP): 6,437 g; Vincristin (VCR): 0,006 g; Cytosinarabinosid (ARA-C): 0,08 g; Prednison (PRED): 1,69 g.
Überlebenszeit: 194 Tage.
2. M. G. : 5 4/12 J. alter Junge (1. Kind einer b. Geburt 45 J. alten Mutter) mit ALL. Lymphknoten-, Milz- und Leberbeteiligung.
Beginnleukozytenwert: $225.600/\text{mm}^3$. Knochenmark: 94,5 % Parablasten, Mitoseindex: 0,3 %; Chromosomenzahl: 46. Keine Vollremission.
Amethopterin (MTX): 0,315 g; 6-MP: 4,825 g; VCR: 0,007 g; ARA-C: 0,16 g; Daunomycin (DAU): 0,08 g; PRED: 5,4 g.
Überlebenszeit: 206 Tage.

3. U. K. : 4 J. alter Junge (1. Kind einer b. Geburt 24 J. alten Mutter) mit ALL. Milz-, Lymphknoten-, ZNS- und Hodenbeteiligung.
Beginnleukozytenwert: 48.000/mm³. Knochenmark:
55,5 % Parablasten. Chromosomenzahl: 46.
4 Remissionen, die erste 83, die letzte 109 Tage dauernd. MTX: 0,61 g; 6-MP: 8,675 g; VCR: 0,0132 g; PRED: 9,255 g; ARA-C: 1,53 g; DAU: 0,1 g.
Überlebenszeit: 530 Tage.
4. A. F. : 6 5/12 J. altes Mädchen (2. Kind einer b. Geburt 34 J. alten Mutter) mit ALL. Milz- und Leberbeteiligung.
Beginnleukozytenwert: 101.400/mm³. Knochenmark:
85,5 % Parablasten, Mitoseindex: 0,3 %; Chromosomenzahl: 46. 2 Remissionen. MTX: 0,3 g; 6-MP: 3,15 g; VCR: 0,007 g; ARA-C: 0,45 g; DAU: 0,08 g; Cyclophosphamid (END): 1,5 g; PRED: 9,66 g.
Überlebenszeit: 332 Tage.
5. R. F. : 4 10/12 J. alter Junge (1. Kind einer b. Geburt 27 J. alten Mutter) mit ALL und Knochenbeteiligung. Beginnleukozytenwert: 1.600/mm³.
Knochenmark: 81 % Parablasten. Mitoseindex: 0,2 %; Chromosomenzahl: 46. In 2. Remission.
Überlebenszeit bis 1.1.1968: 229 Tage.

6. G. K. : 11 1/12 J. altes Mädchen (1. Kind einer b. Geburt 21 J. alten Mutter) mit ALL. Leber- und Milzbeteiligung.
Beginnleukozytenwert: $800/\text{mm}^3$.
Knochenmark: 96 % Parablasten. Modale Chromosomenzahl: 55! In 4. Remission.
Überlebenszeit bis 1.1.1968: 874 Tage!
7. G. F. : 5 Monate alter männlicher Säugling (3. Kind einer b. Geburt 23 J. alten Mutter) mit Monozytenleukämie und Hautbeteiligung.
Beginnleukozytenwert: $8.050/\text{mm}^3$. Knochenmark: 7,0 % Paramonoblasten, 85,5 % Paramonozyten.
Chromosomenzahl: 46. 6-MP: 2,525 g; PRED: 1,0 g;
Überlebenszeit: 182 Tage.
8. P. G. : 12 1/12 J. alter Junge (1. Kind einer b. Geburt 20 J. alten Mutter) mit Lymphosarkomatose.
Pleura- und Leberbeteiligung.
Histologische und cytologische Untersuchung eines Halslymphknotens: Lymphosarkom.
Pleuraerguß: Je 300 ml gelbliche Flüssigkeit beiderseits. Massenhaft Lymphosarkomzellen im Sediment. 1 Vollremission. MTX: 0,673 g; 6-MP: 5,75 g; VCR: 0,0098 g; PRED: 7,245 g.
Überlebenszeit: 232 Tage.

MATERIAL UND METHODIK

1. Präparation isolierter Zellkerne:

Wenige Tropfen Leukämieknochenmark bzw. Pleuraergußsediment (bzw. Leukozytenkonzentrat zur Isolierung normaler Lymphozytenzellkerne) wurden in eisgekühlte, 0,25 m Sucroslösung gegeben, im Reagenzglas mit Teflonkolben homogenisiert und durch zweimaliges Zentrifugieren bei 600 · g, in Kern- und Cytoplasmafraktion getrennt.

Die im Sediment isolierten Zellkerne wurden in einem Tropfen Sucroslösung ($n_D = 1,3445$) auf einen dünnen, fettfreien Objektträger gegeben, mit einem Deckglas abgedeckt, mit Nagellack luftdicht abgeschlossen und im Zeiss-Interferenzmikroskop bei Ölimmersion bis maximal 2 Stunden nach Entnahme untersucht.

Durch die Verdünnung und das Waschen in der Sucroslösung lagen die Kerne einzeln, nur etwa 3 bis 5 im Blickfeld, auf allen Seiten frei im umgebenden Medium (Abb. 1).

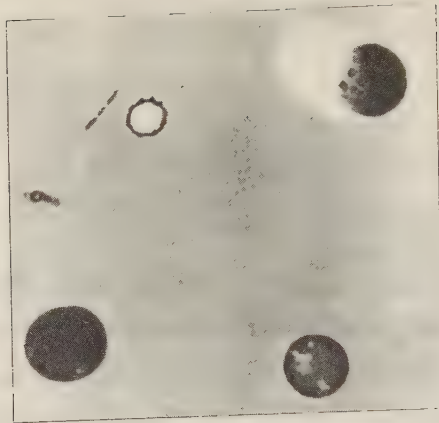


Abb. 1 :

Isolierte Leukämiezellkerne und 1 Erythrozyt (Stechapfelform) bei $\lambda = 5462 \text{ \AA}$ im Interferenzmikroskop.

Die verschieden starke Schwärzung (Erythrozyt!) ist durch Phasendifferenz infolge unterschiedlicher Konzentration bedingt. Der helle, unscharfe Fleck neben einem Kern wird durch den Vergleichsstrahlengang des dunkelsten Kernes hervorgerufen. Achromat 100/1.0 "Pol. Int. III".

Abb. Maßstab 400 : 1, nachvergr. auf 1300 : 1

2. Interferenzmikroskopische Messung:

Im monochromatischen Licht ($\lambda = 5462 \text{ \AA}$) des Zeiss-Photo-interferenzmikroskopes mit Sonderbeleuchtungseinrichtung, wurde durch Maximaldunkeleinstellung mit Hilfe der Analysatordrehung, jeweils die optische Weglänge-Differenz ($\Delta \varphi^\circ$) zwischen Zellkern und Medium (Referenzfeld) gemessen. Die Kernoberfläche (F) wurde nach Mikrophotographie durch Planimetrieren des stark vergrößert projizierten Zellkernbildes bestimmt.

Unter der Annahme, daß Zellkerne Ellipsoide darstellen ($2/3$ Korrektion) und unter Berücksichtigung des Umgebungs-Mediums (n_m), wurde das Gewicht der Trockenmasse des Zellkernes nach folgender Formel berechnet (SCHIEMER et al., 1957):

$$M_K = \frac{2}{3} \left[\frac{\Delta \varphi^\circ \cdot \lambda \cdot F}{180^\circ} + (n_m - n_w) \cdot \frac{F \cdot d}{\chi} \right] [g]$$

χ (= 0,18) gilt als spezifisches Refraktionsvermögen für Nucleinsäuren und Proteine.

Die Dicke errechnet sich nach:

$$d = 2c; \quad c = \sqrt{\frac{F}{\pi}}$$

In Verbindung mit dem Trockengewicht kann man mit Hilfe des Volumens auf den Wassergehalt des Kernes schließen.

Das Volumen des Zellkernes wird nach folgender Formel berechnet:

$$V_K = \frac{2}{3} \cdot F \cdot d$$

Unter Berücksichtigung des Volumens ergibt sich der prozentuale Trockengewichtsgehalt nach:

$$M\% = \frac{M \cdot 100}{Vol}$$

Der Gesamtfehler der bei diesen Untersuchungen benutzten Methoden und Berechnungen liegt unter 15 % (MÜLLER et al., 1959). Pro Patient wurden jeweils 80 bis 100 Zellkerne gemessen; insgesamt, einschließlich der normalen Lymphozyten, 862 Zellkerne.

3. Statistischer Vergleich der okularmikrometrisch und photographisch bestimmten Fläche:

In Vorversuchen wollten wir die Frage klären, ob man die genaue, aber aufwendige Flächenbestimmung durch Photographie und Planimetrie ersetzen kann durch die Messung zweier Durchmesser (a, b) mit Hilfe des Okularmikrometers und die Berechnung der Fläche nach:

$$F = \frac{\pi}{4} \cdot a \cdot b$$

Tabelle 1

zeigt den Flächenvergleich dieser beiden, gleichzeitig vorgenommenen Methoden an Zellkernen und Erythrozyten der untersuchten Patienten.

Als Signifikanzprobe wurde der Student's t-Test angewandt.

Die Mittelwerte dieser Flächen wichen untereinander nur maximal um $10 \mu^2$ (Monozytenleukämie), minimal um $1 \mu^2$ (Pleuralymphosarkom) oder $2 \mu^2$ (Erythrozyten) ab.

Dieses Ergebnis zeigt, daß zur orientierenden Flächenbestimmung die Okularmikrometer-Methode völlig ausreicht. Bei gleichmäßig runden Objekten, wie z. B. Erythrozyten und Lymphosarkomzellen, ergibt sich sogar kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Methoden, so daß man auf Photographieren und Planimetrieren verzichten kann. Da die Flächenwerte bei wachsenden Leukämiezellen im Knochenmark keine Normalverteilung aufweisen und die Fläche den Trockengewichtswert entscheidend beeinflußt, haben wir bei den Trockengewichtsbestimmungen jedoch die durch Photographie und Planimetrie exakt ermittelte Kernfläche verwendet.

Tabelle 1:

Statistischer Vergleich der durch Okularmikrometer (a·b) und durch Planimetrie (PE) ermittelten Kernflächen.

Mittelwerte ± mittlerer Fehler; n= Anzahl der Einzelwerte; t= Signifikanzwert; p= Irrtumswahrscheinlichkeit.

Objekt	n	F(a·b)	F(PE)	t	p <
Erythrozyten	100	46,42±0,88 μ^2	48,23±1,15 μ^2	1,24	0,10
Blutlymphozyten	100	55,14±1,066 "	50,88±0,68 "	3,27	0,0005
H. L. (ALL)	100	39,21±0,64 "	41,59±0,76 "	2,40	0,005
M. G. (ALL)	100	50,10±1,60 "	55,33±0,61 "	3,04	0,0005
Pleuralymphosarkom	100	32,94±0,49 "	33,89±0,52 "	1,33	0,05
Monozytenleukämie	80	86,38±2,84 "	96,60±2,79 "	2,56	0,005

ERGEBNISSE

Das Ergebnis der interferenzmikroskopischen Messungen und Berechnungen von 7 Leukämiezellpopulationen und 1 Lymphosarkomzellpopulation, verglichen mit normalen Blutlymphozyten eines 25-jährigen Mannes, ist in Tabelle 2 dargestellt.

Die Mittelwerte ($\pm$ mittlere Abweichung vom Mittelwert) jedes einzelnen Patienten wurden mit den Lymphozytenmittelwerten auf Signifikanz mit Hilfe des Student's t-Testes verglichen.

Das Zellkerngewicht aller untersuchten malignen Zellen ist mit 53, 105, 143, 109, 96, 110, 52, 167 $\times 10^{-12}$ g signifikant höher als das von normalen Lymphozytenzellkernen (48×10^{-12} g).

Im Durchschnitt wiegen die Leukämiezellkerne doppelt so viel wie die Lymphozytenzellkerne. Die Fläche der Leukämiezellkerne (42, 55, 68, 66, 52, $63 \mu^2$) ist mit Ausnahme der Monozytenleukämie dabei nicht wesentlich größer als die Lymphozytenzellkernfläche ($51 \mu^2$), bei den Lymphosarkomzellen mit $34 \mu^2$ sogar kleiner.

Die Gewichtszunahme ist also weniger durch die Fläche bzw. Volumenzunahme bedingt als durch echte Zunahme an Trockenmasse. Dies wird besonders erkennbar an der Konzentration (Masse pro Flächeneinheit) bzw. Trockengewichtsprozent (Masse pro Volumeneinheit).

Die Trockengewichtsprozente der malignen Zellen, mit Ausnahme der Monozytenleukämie, liegen mit 27, 33, 28, 27, 33, 27, 35 % fast doppelt so hoch wie der Trockengewichtsprozentwert von Lymphozytenzellkernen (18 %).

Die gefundenen Mittelwerte der Leukämie- und Lymphosarkomzellen und die nachgewiesene hohe Signifikanz sind jedoch mit Zurückhaltung zu betrachten.

Im Gegensatz zu den Blutlymphozyten, handelt es sich bei den malignen Zellpopulationen nämlich um wachsende Populationen mit synthetisierenden Zellen in verschiedenen Funktionszuständen.

Ein anschaulicheres und zutreffenderes Bild gibt ein Histogramm mit der Einzelwertverteilung:

In Abb. 2 wurden die Einzelwerte des Kerntrockengewichtes von 6 Kindern mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL), in Histogrammform aufgetragen und untereinander gestellt. Die Kerntrockengewichte normaler Blutlymphozyten wurden damit verglichen (ob. Histogramm, Abb. 2).

Mit Ausnahme des Patienten H. L. mit einem Gipfelwert bei 50×10^{-12} g, liegen die Gipfelwerte der Patienten A. F. mit 80, R. F. mit 90 und G. K. mit 100×10^{-12} g bei höherem Kerntrockengewicht als für Blutlymphozyten (40×10^{-12} g).

Eine starke Streuung der Werte weisen die Patienten M. G. und U. K. auf.

Verdoppelungsgipfel sind mit Ausnahme des Patienten H. L., bei allen Leukämiezellpopulationen angedeutet; ein Zeichen, daß die Trockengewebe bei wachsenden Zellen sich bis zur Mitose verdoppelt.

Den mit 100×10^{-12} g höchsten Gipfelwert für das Kernetrockengewicht zeigen die Zellen des Kindes G. K., die auch eine erhöhte Chromosomenzahl von 55 besitzen.

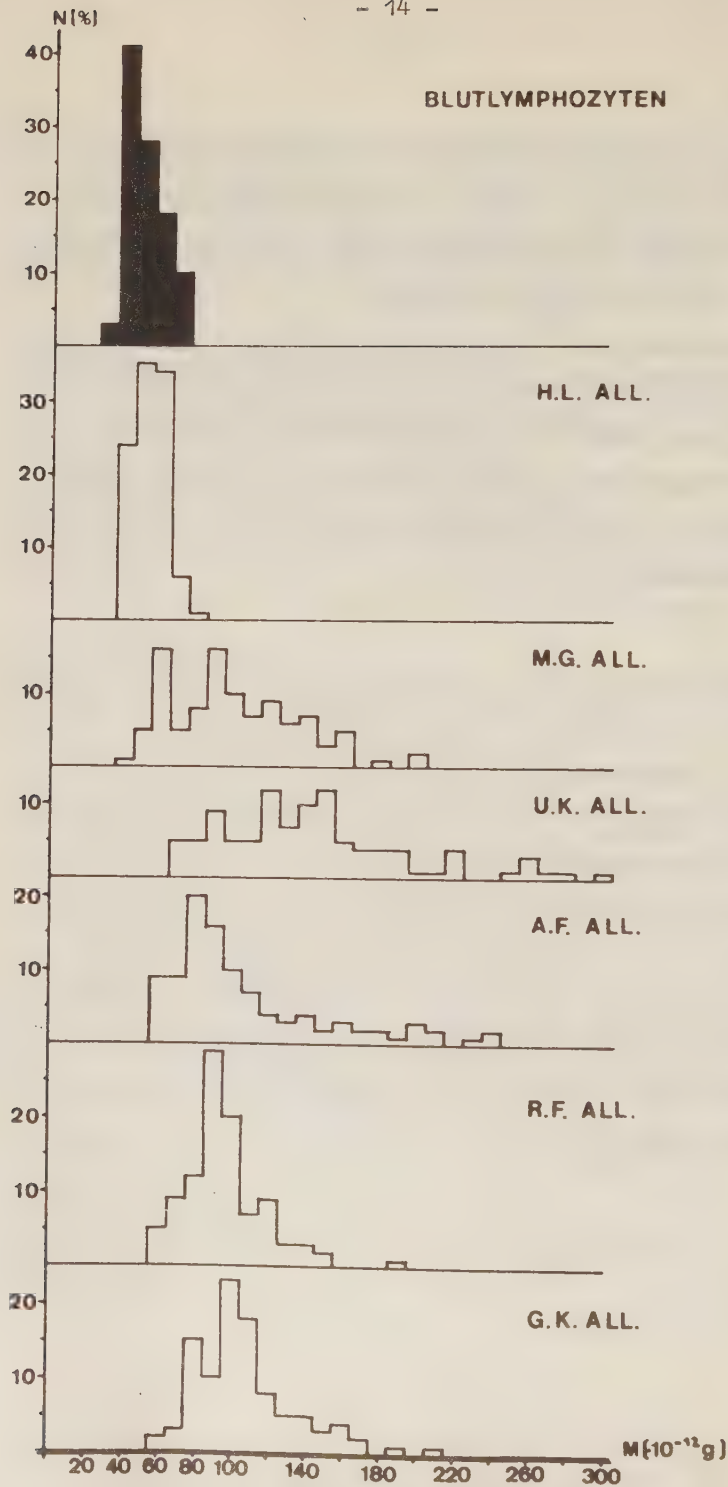
Die übrigen Zellen der untersuchten Patienten hatten, ebenso wie normale Blutlymphozyten, die normale diploide Chromosomenzahl von 46.

Beim Vergleich der Trockengewichtsprozentwerte mit normalen Blutlymphozytenkernen zeigt sich deutlich, daß alle Leukämiezellkerne konzentrationsreicher, also wasserärmer sind als die Lymphozytenzellkerne (Abb. 3).

Die Pleuralymphosarkomzellkerne, die bei den Einzelwerten für Fläche, Trockengewicht und Trockengewichtsprozent eine ähnliche, homogene Verteilung um einen Mittelwert wie die normalen Blutlymphozyten aufweisen, haben mit einem Gipfelwert bei 35 % von allen untersuchten Zellen die höchste Substanzkonzentration im Kern; (Abb. 4).

BLUTLYMPHOZYTEN

Abb. 2



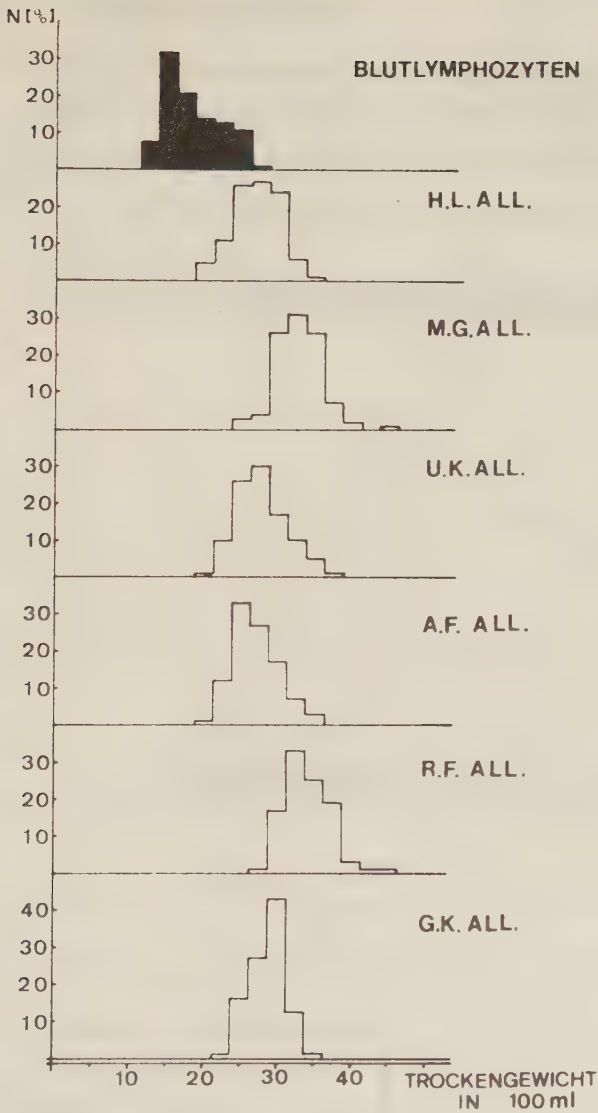


Abb.3

F. G.

PLEURASARKOM

Abb. 4

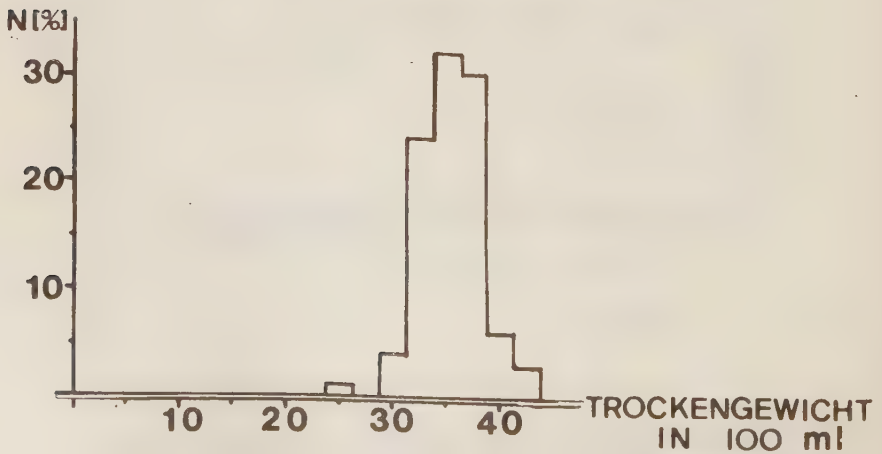
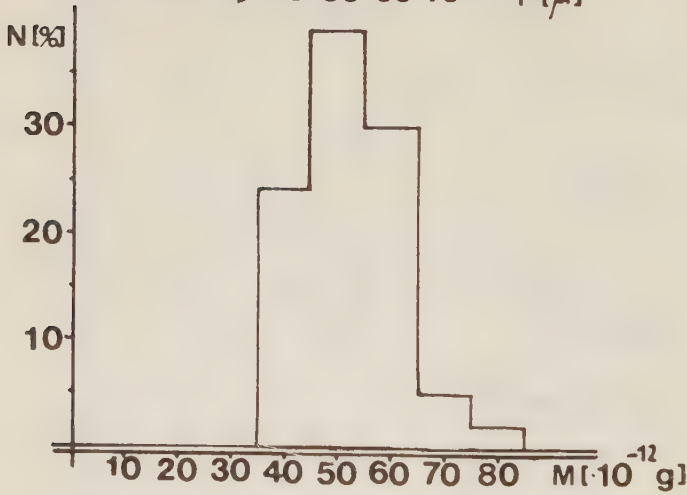
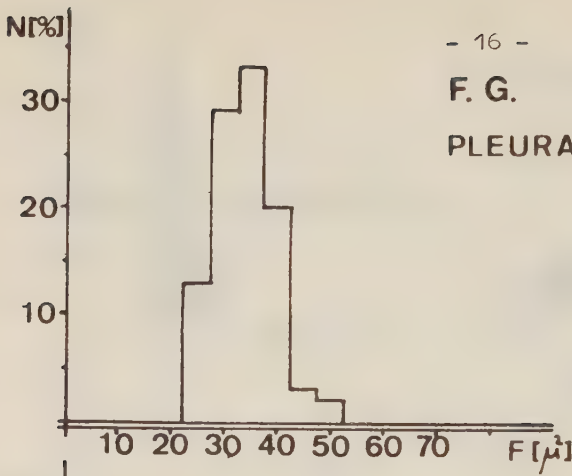


Tabelle 2 :

Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler von Trockengewicht (M) und Fläche (F) von Zellkernen von 6 Kindern mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL), 1 Säugling mit Monozytenleukämie und 1 Kind mit Pleuralymphosarkom, verglichen mit normalen Lymphozytenkernen.

t= Signifikanzmaß; p= Irrtumswahrscheinlichkeit.

	n	M(10^{-12} g)	t/p	F(μ^2)	t/p
Blutlymphozyten	100	48,24 $\pm$ 1,3		50,88 $\pm$ 0,68	
H. L.(ALL)	100	52,91 $\pm$ 0,81	t=3,0 p<0,0025	41,59 $\pm$ 0,76	t=8,07 p<0,0005
M. G.(ALL)	100	104,60 $\pm$ 2,2	t=22,0 p<0,0005	55,33 $\pm$ 0,61	t=7,3 p<0,0005
U. K.(ALL)	78	143,09 $\pm$ 6,29	t=16,4 p<0,0005	67,54 $\pm$ 1,63	t=3,68 p<0,0005
A. F.(ALL)	89	108,89 $\pm$ 4,99	t=39,1 p<0,0005	66,21 $\pm$ 2,18	t=7,06 p<0,0005
R. F.(ALL)	95	96,40 $\pm$ 2,76	t=16,02 p<0,0005	52,35 $\pm$ 0,98	t=1,27 p<0,15
G. K.(ALL)	100	109,56 $\pm$ 2,96	t=18,9 p<0,0005	62,93 $\pm$ 1,89	t=5,98 p<0,0005
Pleuralymphosarkom	100	51,72 $\pm$ 1,118	t=2,02 p<0,025	33,89 $\pm$ 0,52	t=19,76 p<0,0005
Monozytenleukämie (G. F.)	80	167,12 $\pm$ 7,95	t=40,43 p<0,0005	96,60 $\pm$ 2,79	t=17,53 p<0,0005

Tabelle 2 (Forts.) :

Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler von Konzentration (K) und Trockengewichtsprozent (M %) von Zellkernen von 6 Kindern mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL), 1 Säugling mit Monozytenleukämie und 1 Kind mit Pleuralymphosarkom, verglichen mit normalen Lymphozytenkernen.

t= Signifikanzmaß; p= Irrtumswahrscheinlichkeit.

	n	K(10^{-12} g/ μ^2)	t/p	M %	t/p
Blutlymphozyten	100	1,22 $\pm$ 0,00142		18,3 $\pm$ 1,2	
H. L.(ALL)	100	1,63 $\pm$ 0,0077	t=45,8 p<0,0005	26,7 $\pm$ 0,32	t=3,73 p<0,0005
M. G.(ALL)	100	2,09 $\pm$ 0,013	t=67,4 p<0,0005	33,11 $\pm$ 0,33	t=30,8 p<0,0005
U. K.(ALL)	78	1,98 $\pm$ 0,034	t=25,0 p<0,0005	27,68 $\pm$ 1,15	t=5,86 p<0,0005
A. F.(ALL)	89	1,76 $\pm$ 0,028	t=19,8 p<0,0005	26,8 $\pm$ 0,344	t=17,3 p<0,0005
R. F.(ALL)	95	2,17 $\pm$ 0,0098	t=98,2 p<0,0005	33,15 $\pm$ 0,864	t=16,15 p<0,0005
G. K.(ALL)	100	1,95 $\pm$ 0,011	t=64,05 p<0,0005	27,01 $\pm$ 1,07	t=7,74 p<0,0005
Pleuralymphosarkom	100	1,84 $\pm$ 0,0108	t=56,5 p<0,0005	35,44 $\pm$ 0,304	t=37,05 p<0,0005
Monozytenleukämie (G. F.)	80	1,74 $\pm$ 0,029	t=20,0 p<0,0005	22,99 $\pm$ 0,26	t=10,4 p<0,0005

D I S K U S S I O N

Mit Hilfe des Interferenzmikroskopes bestimmten wir Trockengewicht, Konzentration, Fläche, Volumen und prozentualen Trockengewichtsgehalt von unfixierten, isolierten Zellkernen. Als Standard für normale, diploide menschliche Zellen wurden Lymphozytenzellkerne gemessen. Zum Vergleich dazu untersuchten wir Zellkerne wachsender, maligner Zellpopulationen, die Lymphozytengewebe entstammten:

Lymphosarkomzellen und Blasten im Knochenmark bei akuter lymphoblastischer Leukämie im Kindesalter.

Eine Ausnahme bildete die Monozytenleukämie, die auf Grund der verschiedenen Morphologie und des Verhaltens nicht vergleichbare Werte ergab.

In Übereinstimmung mit STENRAM (1961) zeigten unsere Messungen, daß nur 20 bis 30 % des Zellkernvolumens aus Trockenmasse besteht. Über 70 % der Trockenmasse des Zellkernes setzen sich aus Proteinen zusammen (ALLFREY et al., 1955).

$\frac{1}{3}$ der gesamten Kerntrockenmasse wird sogar allein von den "sauren Proteinen" gebildet, einer funktionell sehr wichtigen, noch fast unerforschten Eiweißkomponente des Zellkernes (WANG, 1967). Das Trockengewicht gibt uns also vor allem Aufschluß über die Zellkernproteine.

Die gemessenen Lymphozytenkerne hatten, entsprechend ihrem funktionellen Ruhezustand im peripheren Blut, ein stabiles Trockengewicht mit Werten zwischen 40 und 60×10^{-12} g. Die Zellkerne der akuten lymphoblastischen Leukämie zeigten zum Teil eine erhebliche Streuung der Trockengewichtswerte, wohl bedingt durch ihre Protein- und Nucleinsäuresynthese.

In diesen wachsenden Zellpopulationen werden auch Zellen erfaßt, die kurz vor der Mitose stehen und ihre Masse schon verdoppelt haben. Vergleicht man aber die Histogramme der Leukämiezellpopulationen in ihrem Ruheinterphasengipfel mit den Lymphozyten, so weisen, abgesehen von einer Ausnahme, alle Leukämiezellpopulationen ein erhöhtes Kerntrockengewicht auf, welches sich um 100, 150, 80, 90, 100×10^{-12} g gruppiert.

Die Leukämiezellen besitzen also schon im Ruhezustand ein zum Teil doppelt so großes Trockengewicht wie Blutlymphozyten.

Diese Trockengewichtszunahme ist nicht durch Volumenzunahme bedingt, da der prozentuale Anteil der Trockenmasse (Masse pro Volumeneinheit) am Gewicht des Leukämiezellkernes, durchschnittlich mit 29 % erheblich höher liegt als in den Lymphozyten, deren Kerne 18 % Trockenmasse aufweisen.

Noch deutlicher wird die Trockengewichtszunahme durch Substanzkonzentration bei den Lymphosarkomzellkernen,

die mit 52×10^{-12} g nur wenig schwerer sind als die Lymphozytenzellkerne, aber mit 35 % Trockenmasse eine doppelt so hohe Substanzkonzentration bzw. Wasserverlust besitzen als die normalen Lymphozytenkerne.

In den spärlichen, bisher in der Literatur vorliegenden Trockengewichtsmessungen menschlicher Zellen, wurde bei Leukämiezellen des peripheren Blutes (CHRISTOPHERSON et al., 1963) und bei Carcinomzellen (SANDRITTER und KLEINHANS, 1964) ebenfalls ein erhöhtes Kerntrockengewicht gefunden.

Ein wichtiger Befund unserer Messungen war das erhöhte Kerntrockengewicht auch bei solchen Leukämiezellpopulationen, bei denen durch direkte Chromosomenuntersuchungen eine normale Chromosomenzahl von 46 und ein diploider DNS-Gehalt gefunden wurden (LAMPERT, 1967). Die Kerne maligner Zellen enthalten also im Vergleich zu Normalzellen mehr Protein!

Nimmt man Kernproteine als Gen-Repressoren und eine verminderte Gen-Expression durch vermehrte zelluläre Repressoren an (YIELDING, 1967), so könnte man spekulieren, daß die Undifferenziertheit der Krebszelle nicht durch eine Enthemmung, sondern im Gegenteil durch eine Unterdrückung aller Genfunktionen durch zuviel Repressor-Protein zustande kommt.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Interferenzmikroskopische Trockengewichtsbestimmungen wurden an isolierten Zellkernen des Leukämieknorpelmarkes und eines Pleuraergusses bei 6 Kindern mit akuter lymphoblastischer Leukämie, einem Säugling mit Monozytenleukämie und einem Patienten mit Lymphosarkom ausgeführt.

Es wurden jeweils 80 bis 100 Zellkerne pro Zellpopulation gemessen. Normale Lymphozytenkerne dienten als Vergleich.

Das mittlere Kerntrockengewicht der 6 untersuchten lymphoblastischen Leukämiezellpopulationen (53, 105, 143, 109, 96, 110 $\times 10^{-12}$ g), der Monozytenleukämiezellpopulation (167 $\times 10^{-12}$ g) und der Lymphosarkomzellpopulation (52 $\times 10^{-12}$ g), war signifikant höher als das von normalen Blutlymphozyten (48 $\times 10^{-12}$ g). Das Kerntrockengewicht war auch in der Ruheinterphase (G_1 -Phase) erhöht. Der prozentuale Anteil der Trockenmasse am Volumen war mit 29 % bei den Leukämiezellkernen und mit 35 % bei den Lymphosarkomzellkernen deutlich vergrößert, gegenüber 18 % bei den Lymphozytenkernen.

Das erhöhte Kerntrockengewicht der malignen Zellen könnte Ausdruck vermehrten (Repressor?) Proteins sein.

L E G E N D E N

Abb. 2 : Trockengewicht (M) isolierter Leukämiezellkerne aus dem Knochenmark von 6 Patienten mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL), verglichen mit normalen Lymphozytenkernen.
N (%)= prozentuale Häufigkeit.

Abb. 3 : Prozentualer Trockengewichtsgehalt (M in 100 ml) der Leukämiezellkerne der 6 Patienten mit ALL und der normalen Blutlymphozytenkerne.
N (%)= prozentuale Häufigkeit.

Abb. 4 : Fläche (F), Trockengewicht (M) und Trockengewichtsprozent (M in 100 ml) der Pleuralymphosarkomzellen des Patienten P. G.
N (%)= prozentuale Häufigkeit.

L I T E R A T U R

ALLFREY, K. G., M. M. DALY, and A. E. MIRSKY: Some observations on protein metabolism in chromosomes of non-dividing cells. J. gen. Physiol. 38, 415 (1955)

BARER, R.: Determination of dry mass, thickness, solid and water concentration in living cells. Nature (Lond.) 172, 1097 (1953)

CHRISTOPHERSON, W. M., W. L. BROGHAMER, Jr., F. J. SWARTZ: Deoxyribonucleic acid and anhydrous nuclear mass values in leukemia and normal lymphocytes. A comparative microdensitometric and interferometric study. Amer. J. Path. 17, 337 (1963)

DULBECCO, R.: Transformation of cells in vitro by DNA-containing viruses. J. Amer. Med. Ass. 190, 721 (1964)

GRANBOULAN, N., P. TOURNIER, R. WICHER, and W. BERNHARD: An electron mikroskopische study of the development of SV 40 virus. J. Cell Biol. 17, 423 (1963)

LAMPERT, F.: Cellulärer DNS-Gehalt und Chromosomenzahl bei der akuten Leukämie im Kindesalter und ihre Bedeutung für Chemotherapie und Prognose. Klin. Wschr. 45, 763 (1967)

MÜLLER, D., W. SANDRITTER, H. G. SCHIEMER und K. ENDRES:

Röntgenhistoradiographische und interferenzmikroskopische Trockengewichtsuntersuchungen an Zellausstrichen. *Histochemie* 1, 438 (1959)

SANDRITTER, W. und D. KLEINHANS: Über das Trockengewicht, den DNS- und Histonproteingehalt von menschlichen Tumoren. *Z. Krebsforsch.* 66, 333 (1964)

SCHIEMER, H. G., W. ALT und W. SANDRITTER: Zur Methodik der Trockengewichtsbestimmungen mit dem Baker'schen Interferenzmikroskop. *Acta histochem.* (Jena) 4, 325 (1957)

STENRAM, U.: Interferometric and refractometric determinations of the dry matter concentration of nuclei and nucleoli. *Exp. Cell Res.* 27, 545 (1961)

WANG, T. Y.: The isolation, properties and possible functions of chromatin acidic proteins. *J. biol. Chem.* 242, 1220 (1967)

YIELDING, K. L.: Chromosome redundancy and gene expression: An explanation for trisomy abnormalities. *Nature* 214, 613 (1967)

LEBENS LAUF

Am 7. 6. 1941 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Karl Deckelnick und seiner Ehefrau Franziska, geborene Schleicher, in Riegelsberg/Saar geboren.

Im Jahre 1942 übersiedelten wir nach Nürnberg, wo ich nach der Volksschule im Herbst 1952 in das Willstätter-Gymnasium eintrat. Mit Beginn des Schuljahres 1959/60 wurde ich Schüler am Wolfram-von-Eschenbach-Gymnasium in Schwabach. Dort legte ich 1961 die Reifeprüfung ab.

Während meiner Schulzeit studierte ich am Städtischen Konservatorium der Musik in Nürnberg fünf Jahre lang Violoncello.

Im Wintersemester 1961/62 begann ich an der Universität Erlangen-Nürnberg mit dem Studium der Physik und Mathematik. Im Sommersemester 1962 wechselte ich zum Medizinstudium und bestand im April 1963 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im Oktober 1964 die ärztliche Vorprüfung. Während des Sommersemesters 1965 studierte ich an der Universität Kiel, die übrigen Studienjahre absolvierte ich an der Universität Erlangen-Nürnberg.

Im September 1967 begann ich mit der ärztlichen Prüfung, die ich am 27. Februar 1968 bestand.



Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 852 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
